

# Alveolar Ekinokokkoz Tanısında ELISA (Em2-Em18) ve Western Blotting Yöntemlerinin Kullanımı

## Use of the ELISA (Em2-Em18) and Western Blotting Methods on Diagnosis of Alveolar Echinococcosis

Mehtap Demirkazık<sup>1</sup>, İsmail Soner Koltas<sup>1</sup>, Tonay İnceboz<sup>2</sup>, Metin Korkmaz<sup>3</sup>, Derya Gümürdülü<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

<sup>2</sup>Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye

<sup>4</sup>Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

Cite this article as: Demirkazık M, Koltas İS, İnceboz T, Korkmaz M, Gümürdülü D. Alveolar Ekinokokkoz Tanısında ELISA (Em2-Em18) ve Western Blotting Yöntemlerinin Kullanımı. Türkiye Parazitoloj Derg 2019; 43(1):Suppl 1: 13-7.

### ÖZ

**Amaç:** Alveolar ekinokokkoz (AE) kuzey yarım kürenin ölümcül parazitik zoonozlarından biri olup erken tanı konulması ve tedaviye başlanması hayatta kalma olasılığını arttırmaktadır. Bu çalışmada, çeşitli hastalıklardan tanı almış 50 hastanın serum örneği iki farklı serolojik tanı yöntemi ile değerlendirilmiştir.

**Yöntemler:** Çalışmada, Em2-Em18 ELISA (Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland) ve Echinococcus Western Blot immünooglobulin G (IgG) (LDBIO Diagnostics, Lyon, France) yöntemleri kullanılmıştır.

**Bulgular:** Em2-Em18 ELISA ile patolojik olarak AE tanılı 10 hastanın dokuzunda, kistik ekinokokkoz (KE) tanılı 21 hastanın ikisinde, 2 fascioliasis tanılı hastanın birinde ve bir kronik hepatitli hastada yüksek titrede antikor saptanmıştır. Doğrulayıcı test olarak kullanılan Echinococcus Western Blot IgG testi ile 10 AE hasta serumunun tamamı pozitif olarak değerlendirilirken KE hastalarının %85,7'sinde (18/21) IgG antikor saptanmıştır. Hepatit hastasında ve kazeifiye granülatöz enflamasyon görülen hastada ise bu yöntemle yanlış tanıya rastlanmıştır. Karaciğer ile ilgili hastalıkları olan ve diğer parazitler kaynaklı hastalıkları olan hastalardan alınan örnekler ise negatif olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Çalışmada uygulanan serolojik yöntemler, endemik bölgelerde özellikle AE'nin erken tanısında ve sero-epidemiolojik çalışmalarda kullanılabilirlik açısından önemli bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Alveolar ekinokokkoz, serolojik tanı, ELISA, Western Blotting

### ABSTRACT

**Objective:** Alveolar echinococcosis (AE) is one of the most lethal parasitic zoonoses in the Northern Hemisphere, and early serological detection is important to start treatment and to improve survival. A total of 50 sera samples of patients diagnosed as having various diseases were examined for by two different serological diagnostic methods.

**Methods:** Em2-Em18 ELISA (Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland) and Echinococcus Western Blot immünooglobulin G (IgG) (LDBIO Diagnostics, Lyon, France) were used for analysis.

**Results:** A high titer of antibodies was found in 9 of 10 patients diagnosed as having AE with Em2-Em18 ELISA, in 2 of 21 patients with cystic echinococcosis, in 1 of 2 patients with fascioliasis and in 1 patient with chronic hepatitis. The Echinococcus Western Blot IgG test, used as a confirmatory test, showed IgG antibody in 85.7% (18/21) of patients with CE, while all serum samples of 10 patients with AE were evaluated as positive. This method yielded an incorrect diagnosis in the patient with chronic hepatitis and in the patient with granulomatous inflammation with caseification. Samples taken from patients with liver-related diseases and other parasitic-related diseases were found to be negative.

**Conclusion:** The serological methods used in the study were found to be important in the early diagnosis of alveolar echinococcosis in the endemic areas, since it could be used in sero-epidemiological studies.

**Keywords:** Alveolar echinococcosis, serological diagnosis, ELISA, Western Blotting



Geliş Tarihi/Received: 29.05.2019 Kabul Tarihi/Accepted: 21.08.2019

Yazar Adresi/Address for Correspondence: İsmail Soner Koltas, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, Adana, Türkiye

E-Posta/E-mail: koltas@cu.edu.tr ORCID ID: orcid.org/0000-0003-4691-832X

## GİRİŞ

Ekinokokkoz, taenia sestod *Echinococcus* cinsinin sebep olduğu zoonotik parazitik bir enfeksiyondur. İnsanda hastalık oluşturduğu bilinen dört tür *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *E. vogeli* ve *E. oligarthrus*'dur (1). İlk ikisi Türkiye'de önemli halk sağlığı problemi oluşturmaktadır. Alveolar ekinokokkoz (AE) tilki şeridi *E. multilocularis*'in larval formu metastesodun sebep olduğu, yaşamı tehdit eden bir zoonoz olup erken tanı sonrası tedavi edilmezse ölümcül olabilmektedir (2). *E. multilocularis*'in devam eden yaşam döngüsünde son konak *Vulpes* cinsi tilkiler iken ara konak *Arvicolidae* ailesine bağlı kemiricilerdir. Köpek ve ayrıca kediler de ara konaklarla beslendiklerinde son konak olabilir. İnsan sestod yumurtalarını sindirim yolu ile aldığımda rastlantısal ara konak olarak enfekte olur (3). Metastesod dışı doğru infiltratif sınırsız proliferatif kapasite ile yavaşça gelişir. Uzun asemptomatik periyod ve tümör benzeri multiveziküler yapıda invaziv karakterli infiltratif yıkımlayıcı gelişen, uzak organlara metastaz yapabilen sekonder lezyonlar akciğer veya beyin gibi organlarda da ciddi enfeksiyonlar meydana getirebilir. Tedavi edilmeyen hastalarda tanı konulduktan 10 yıl sonra mortalite oranı %95 olarak bildirilmiştir (4).

AE olguları Kuzey Amerika, Avrupa ve Asya'da kuzey yarım kürede sınırlanmıştır (5). Endemik bölgeler içinde Orta Avrupa, Japonya'ya uzanan kuzey ve Orta Asya ve Kuzey Amerika bulunur (6). Türkiye'de insanda ilk olgu 1872'de, kesin konakta ise 1965'de bildirilmiştir (7). 1872-1995 yılları arasında 180 AE hastası bildirilmiştir (7). 2007 yılına kadar 430 olgu (8) ve 2000-2010 yıllarında 162 yeni olgu bildirilmiştir (9). AE olgularının bölgesel olarak %86'sı Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde yaşadıkları görülmüştür. Organ yerleşiminin %95 oranında karaciğerde olduğu bildirilmiştir. Çukurova'dan 6 olgunun serolojik tanısı immünoblotting yöntemi ile 70 ve 90 kDa bantlarla tanımlanarak konulabilmiştir (10). AE'de erken tanı ve tedavi yaşamsal önem taşımaktadır (11). Avrupa ve Asya'da yapılan son çalışmalar AE endemik bölgelerinin daha önce bilinen oranlara kıyasla arttığını göstermiştir. *E. multilocularis* kırsal alandan şehirlere doğru genişlemiştir.

*Echinococcus* spp. spesifik serum antikor testi ile yüksek oranda duyarlılık ve hassasiyette tanımlanabilir (12). Yıllar içerisinde tanı yöntemlerinin gelişmesi ile AE hasta sayısının arttığı görülmektedir. AE tanısı temel olarak klinik bulgular, epidemiyolojik veriler, ultrason (US), bilgisayarlı tomografi (BT), manyetik rezonans (MR) gibi görüntüleme yöntemleri ile uyumlu lezyon morfolojisi ve immün tanı testleri ile yapılmaktadır. Kesin tanı yöntemi histopatolojik incelemeye dayalıdır (13). Gelişen moleküler tanı yöntemlerinden kesin tanıda önemli ölçüde faydalanılmaktadır (14). Bu çalışmada, AE serolojik tanısında ELISA ve Western Blotting (WB) yöntemlerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## YÖNTEMLER

### Serum Örnekleri

Bu çalışmada 2009-2012 yılları arasında elde edilmiş tedavi öncesi patolojik olarak AE tanısı alan 10 hasta serumu yanı sıra çapraz reaksiyon görülüp görülmeyeceğine bağlı paraziter veya diğer hastalıkları içeren hasta serumları ve US görüntülemesinde

karaciğerlerinde kitle görülmeyen sağlıklı kontrol grubu olmak üzere toplam 50 serum örneği kullanılmıştır. Diğer parazitik hastalıklara ait serum örnekleri olarak ise, 2 kistik ekinokokkoz (KE), 2 visseral leishmaniasis, 2 tropika sıtması, 2 amebiyazis (*E. histolytica*), 2 fascioliasis, 1 toksoplazmoz ve 1 toksokaryaz hastasından alınan örnekler; diğer karaciğer hastalıklarına ait örnekler olarak da 1 karaciğer yağlanması olan, 1 kronik hepatit tanısı almış ve 1 kazeifiye granülatöz inflamasyon tanısı almış hasta örnekleri kullanılmıştır. Kontrol olarak ise, görüntüleme yöntemleri ile karaciğerlerinde lezyon görülmeyen 6 sağlıklı bireyden alınan serum örnekleri çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışılan 50 serum örneğinden 6 AE, 6 KE ve 4 sağlıklı kontrol örneği Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı'ndan diğer serum örnekleri ise Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'na ulaşan serum örneklerinden elde edilmiştir.

### Em2-Em18 ELISA Yöntemi

Tarama testi olarak *E. multilocularis* Em2-Em18 antijen ile kaplı ELISA testi uygulanmıştır. Üretici firma (Bordier Affinity Products, Crissier, Switzerland) uyarıları dikkate alınarak negatif, zayıf pozitif, pozitif kontrol ve 50 serum örneği aynı laboratuvar koşullarında birlikte çalışılmıştır. Zayıf pozitif kontrol optik dansite sonucu eşik değer olarak kabul edilmiştir. Negatif, zayıf pozitif ve pozitif kontroller tris-tamponlu salin (TBS)-Tween ile 1/20 oranında, diğer serum örnekleri ise 1/200 oranında TBS-Tween ile sulandırılmıştır. Kontroller ve serum örnekleri çalışılacak kuyulara TBS-Tween eklenerek 15 dakika inkübasyona tabi tutulmuş, döküldükten sonra ilk kuyuya 100 µL TBS-Tween, 100'er µL sulandırılmış kontroller, 100 µL sulandırılmış serum örnekleri sırası ile eklenip 30 dk 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 4 kez yıkama yapıp 100 µL sulandırılmış protein A-alkalin fosfat konjugatı eklenmiş ve yine 30 dk 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Yıkama işlemi tekrarlandıktan sonra 100 µL substrat eklenerek 30 dk 37 °C'de inkübasyona bırakılmış, süre sonunda her kuyuya 100 µL durdurma solüsyonu eklenerek ELISA okuyucusunda (ST-360 Microplate Reader) 405 nm de okutulmuştur.

### Western Blotting Yöntemi

Bu yöntem, üretici firma (LDBIO Diagnostics, Lyon, France) uyarıları dikkate alınarak çalışma programı (strip numaraları ve serum örnekleri numaraları kodlanarak) düzenlenmiştir. Aynı kanalları bulunan inkübasyon tepsinine pudrasız eldiven kullanarak stripler dikkatlice birbirinden ayrılarak her bir strip bir kanala gelecek şekilde dağıtılmıştır. Dakikada 10 döngü yapan sallayıcı (Shaker, Nüve SL 350) 1,2 mL buffer ile 5-10 dk striplerin ıslanması sağlanmıştır. Düzenlenen sıraya göre pozitif kontrol ve serum örneklerinden 50 µL eklenerek 90 dk sallayıcıda bırakılmıştır. Tüm kanallardaki sıvılar aspire edilerek 3 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Konjugat eklenerek 60 dk inkübe edilerek yıkama işlemi tekrarlanmıştır. Kanallara bromo chloro indolyl phosphate/nitroblue tetrazolium içeren substrat eklenip üzeri alüminyum folyo ile kaplanmış ve 20 dk sonrasında renk oluşumu 5 dk ara ile kontrol edilmiştir. Kanallardan sıvı aspire edildip distile su ile renk değişimi durdurulmuş ve stripler havada kurutulmuştur.

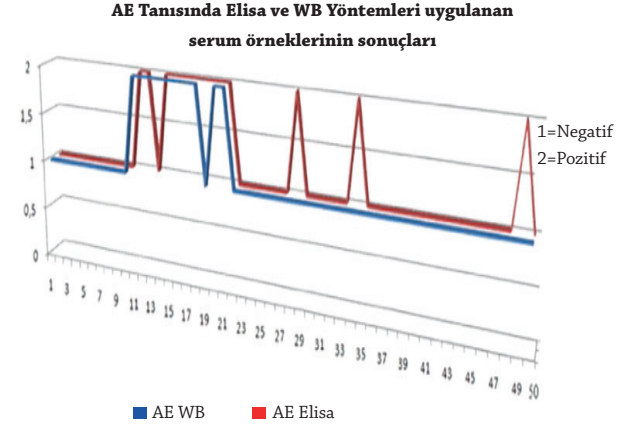
## BULGULAR

Patoloji sonuçlarına göre kesin tanı almış 10 AE hasta serumlarının dokuzunda Em2-Em18 ELISA ile AE tanısı yapılmıştır. Ayrıca, 2 KE, 1 fasioliasis ve 1 kronik hepatitli hasta serumunda zayıf pozitif üzeri değere rastlanmıştır. AE için testin duyarlılığı ve özgüllüğü %90, pozitif prediktif değeri %69,2 negatif prediktif değeri %97,3 olarak belirlendi.

Serum örneklerine uygulanan WB yöntemi üretici firmanın tanımladığı beş farklı (P1-P5) kalıpla değerlendirilmiştir (Tablo 1). Strip üzerinde oluşan bantlara göre sonuçlar aşağıdaki kriterlere göre değerlendirilmiştir. Patoloji sonuçlarına göre AE olarak tanımlanmış bütün hastaların serum örnekleri P3 kalıbında tanımlanırken P1 kalıbında 5 (%23,8) KE hastası, P2 kalıbında 12 (%57,1) KE hastası tanımlanmıştır. Bir (%4,7) KE hastası P5 kalıbı ile uyumlu iken 3 KE hastası negatif bulunmuştur. Ayrıca kronik hepatit hastası P5 ve kazeifiye granülatöz enflamasyon tanısı alan bir hasta P4 kalıbında pozitif sonuç vermiştir. Diğer parazitler hastalıklarda, karaciğer yağlanması tanısı alan ve negatif kontrol serum örneklerinde ise herhangi bir bant görülmemiştir.

WB yöntemi *Echinococcus* spesifik antikorları %90,3 (28/31) oranında tanımlarken *E. granulosus* ve *E. multilocularis* serolojik ayrımı %87 (27/31) oranında gerçekleşmiştir. Duyarlılık ve özgüllük WB'de %100 bulunurken kazeifiye granülatöz enflamasyon tanısı alan hasta serumu ve kronik hepatit tanısı

alan hasta serumları *Echinococcus* spesifik (P4, P5) kalıbında bulunmuştur. Şekil 1'de AE tanısında ELISA ve WB yöntemleri uygulanan serum örneklerinin sonuçları, Tablo 2'de WB tanımlanan kalıplar ve ELISA değerlendirilmesi, Şekil 2'de ise WB pozitif kontrol, negatif kontrol, P3 ve P2 kalıp görüntüleri verilmiştir.



**Şekil 1.** AE tanısında ELISA ve WB yöntemleri uygulanan serum örneklerinin sonuçları

AE: Alveolar ekinokokkoz, WB: Western Blotting

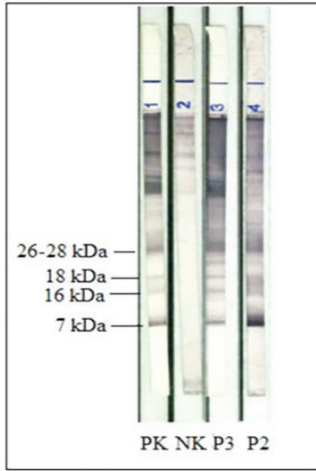
**Tablo 1.** Kriterler

Kalıp	Bantlar	Tanı
P1 kalıbı	7 kDa'da tek bant varlığı	Kistik ekinokokkoz tanısı ( <i>Echinococcus granulosus</i> )
P2 kalıbı	7 kDa'da bir bant ve 16-18 kDa'da geniş silik bantların varlığı	Kistik ekinokokkoz tanısı ( <i>Echinococcus granulosus</i> )
P3 kalıbı	26-28 kDa'da ve 16 ve/veya 18 kDa'da keskin dar bantların varlığı	Alveolar ekinokokkoz tanısı ( <i>Echinococcus multilocularis</i> )
P4 kalıbı	Yalnızca 26-28 kDa'da bant varlığı	<i>E. granulosus</i> ve <i>E. multilocularis</i> arasında ayırım yapamaz
P5 kalıbı	Ara bantlar olmaksızın 7 kDa ve 26-28 kDa'da bant varlığı	

**Tablo 2.** WB tanımlanan kalıplar ve ELISA yöntemi ile alınan sonuçlar

Serum Örnekleri	Echinococcus WB IgG						ELISA	
	P1	P2	P3	P4	P5	Neg	Poz	Neg
AE	-	-	10	-	-	-	9	1
KE	5	12	-	-	1	3	2	19
VL	-	-	-	-	-	2	-	2
Sıtma	-	-	-	-	-	2	-	2
Amebiyaz	-	-	-	-	-	2	-	2
Fascioliasis	-	-	-	-	-	2	1	1
Toksoplazmoz	-	-	-	-	-	1	-	1
Toksokaryaz	-	-	-	-	-	1	-	1
KY	-	-	-	-	-	1	-	1
KH	-	-	-	-	1	-	1	-
KGİ	-	-	-	1	-	-	-	1
Kontrol	-	-	-	-	-	6	-	6
<b>Toplam</b>	<b>50</b>						<b>50</b>	

AE: Alveolar ekinokokkoz; KE: Kistik ekinokokkoz; VL: Visseral leishmaniasis; KY: Karaciğer yağlanması; KH: Kronik hepatit; KGİ: Kazeifiye granülatöz enflamasyon, WB: Western blotting, IgG: İmmüoglobulin G



Şekil 2. Western Blotting pozitif kontrol, negatif kontrol, P3 ve P2 kalıp görüntüleri

## TARTIŞMA

Bu çalışmada, erken tanının yaşamsal önemi olan AE hastalığında Em2-Em18 ELISA ve WB yöntemlerinin rutin laboratuvarlarda uygulanabilirliğinin belirlenmesi hedeflenmiştir. AE tanısında, başta kist yapısının radyolojik yöntemler (US, BT ve MR) yardımı ile görüntülenmesi ve histopatolojik incelenmesinin yanı sıra immünojenik testlerden de faydalanılmalıdır. Serolojik yöntemler olarak tanımladığımız immünojenik tekniklerden özellikle yeni geliştirilen antijenlerle hazırlanan ELISA ve WB yöntemleri rutin tanıda önem arz etmektedir. Ülkemiz AE'de yeni olguların bildirilmesi sebebiyle endemik bölge olarak kabul edilmiştir. Türkiye gibi endemik bölgelerde yapılacak sero-epidemiolojik çalışmalarda erken tanı ELISA ve *Echinococcus* WB immünooglobulin G (IgG) yöntemleri ile sağlanabilir. Bu amaçla tarama testi olarak ELISA ve karşılaştırma amaçlı olarak da *Echinococcus* WB IgG uygulanabilir (3).

Araştırmacılar ELISA yönteminin verimliliğinin değişik coğrafi orijinli parazit izolatlarına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. İmmün tanıda ELISA yöntemi uygulanarak, İsviçre ve Fransa orijinli hasta serumlarında duyarlılık %96, Alaska ve Japon hasta serumlarında %100 olarak bildirilmiştir (15-17). Bu çalışmada Türkiye orijinli hasta serum örneklerinin duyarlılığı %90 olarak saptanmıştır. Ayrıca benzer yönde fascioliasis ve KE hasta serumunda Em2-Em18 ELISA yöntemi ile çapraz reaksiyon görülmüştür. Ek olarak bu çalışmada kronik hepatit tanısı alan bir hasta serumu da pozitif olarak bulunmuştur.

*Echinococcus* WB IgG yöntemi *Echinococcus* cinsinde KE ve AE ayrımını yaparken, ELISA yöntemi ile sadece AE tanısı yapılmıştır. Ülkemiz gibi AE ve KE ile endemik coğrafi bölgelerde ayrı tanıının önemi büyüktür (18).

Yapılan çalışmalardan *Echinococcus* WB IgG yöntemi ile *E. vogeli* hasta serumlarında ve *E. multilocularis*'e homolog antijen varlığı ile P3 kalıbında görüldüğü bildirilmiştir. Bir nörosistiserkoz hasta serumu da P3 kalıbında tanımlanmıştır. Üç *Schistosoma mansoni* ile enfekte hasta serumu P1 kalıbında tanımlanarak çapraz reaksiyon görülmüştür. Bizim çalışmamızda kronik hepatit hasta serumu P5 ve kazeifiye granülomatöz enflamasyon hasta serumu P4 olarak tanımlanmıştır. Diğer parazitler hasta serumlarında çapraz reaksiyona rastlanmamıştır. Benzer şekilde araştırmacılar

ekinokokkoz hastalarını %97 oranında tanımladığını belirledikleri halde (19), çalışmamızda bu oran %90 oranında bulunmuştur. Tür ayrımının ise %76 oranında yapıldığı belirtilirken (19), çalışmamızda %87 oranında olduğu görülmüştür.

Diğer bir çalışmada ise iki atipik ekinokokkoz hasta serumu örneğinde serolojik tanıda uygulanan *E. granulosus* hidatik kist sıvısı kullanılarak yapılan in-house ELISA ve *Echinococcus* WB IgG testleri aynı zamanda PCR ve histoloji bulguları ile karşılaştırılmıştır. PCR ile *E. multilocularis* tanımlanan hasta serumlarında bir hasta ELISA ile pozitif *Echinococcus* WB IgG ile negatif iken *Echinococcus* WB IgG ile KE olarak tanımlanmıştır (20). Küratif rezeksiyon sonrası birçok hasta serumunda ELISA yöntemi ile antikor tanımlanamamıştır (21). *Echinococcus* WB IgG yöntemi AE hastalarının farklı klinik evrelerinin takibinde uygun bir yöntem olduğu rezeksiyon sonrası 16-18 kDa bantların 1-4 yıl sonra kaybolduğu bildirilmiştir (22). Korkmaz ve ark. (23) tarafından yapılan bir çalışmada *Echinococcus* WB IgG yöntemi AE için 70-90 kDa bantları çok yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip bantlar elde edildiği bildirilmiştir. Çalışmamızda şüpheli hasta serum örnekleri tedavi öncesi alınmıştır.

Çalışmamızda uygulanan ELISA yöntemi, patolojik tanı ile karşılaştırıldığında sensitivitesi ve spesifitesi %90 olarak saptanırken, pozitif prediktif değeri %69,2 ve negatif prediktif değeri %97,3 olarak bulunmuştur. Endemik bölgelerde yaşayan ya da bu bölgelere bir süreliğine gidenlerde uygulanabilecek maliyeti düşük, kısa sürede çok sayıda şüpheli hasta serumu çalışılacak kolay yorumlanabilir duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek güvenilir tarama testi olduğu görülmüştür. Doğrulama testi olarak WB uygulanarak tanının desteklenebileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada, Türkiye orijinli hasta serumlarında karşılaştırmalı olarak ELISA ve *Echinococcus* WB IgG testi çalışılmıştır. Yapılacak epidemiolojik çalışmalarda büyük sayıda şüpheli hasta serumlarının farklı klinik evrelerdeki takiplerde çalışılması önerilebilir.

## SONUÇ

Sonuç olarak AE ve KE'nin endemik olarak birlikte görüldüğü ülkelerde serolojik tanıda *Echinococcus* WB IgG yöntemi çalışılabilir. Endemik bölgelerde AE'un rutin tanısında ELISA ve *Echinococcus* WB IgG yöntemleri yararlı ve güvenilir olarak bulunmuştur.

### \* Etik

**Etik Kurul Onayı:** Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden 30.06.2009 tarihi ile etik kurul onayı alınmıştır.

**Hasta Onayı:** Hasta onayı alınmamıştır.

**Hakem Değerlendirmesi:** Editörler kurulu içinde olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

### \* Yazarlık Katkıları

Konsept: İ.S.K., M.D., Dizayn: İ.S.K., M.D., Veri Toplama veya İşleme: M.D., İ.S.K., M.K., T.İ., Analiz veya Yorumlama: M.K., D.G., T.İ., Literatür Arama: M.D., Yazan: M.D., İ.S.K.

**Finansal Destek:** Yazarlar tarafından finansal destek almadıkları bildirilmiştir.

**Çıkar Çatışması:** Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TE.2009.D.12 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

**KAYNAKLAR**

1. Craig PS, Rogan MT, Campos-Ponce M. *Echinococcosis*: disease, detection and transmission. *Parasitology* 2003;127:5-20.
2. Gottstein B, Hemphill A. *Echinococcus multilocularis*: The parasite-host interplay. *Exp Parasitol* 2008;119:447-452.
3. Pawlowski ZS, Eckert J, Vuitton DA, Amman RW, Kern P, Craig PS, et al. *Echinococcosis* in humans: clinical aspects, diagnosis and treatment. In: Eckert J, Gemmell MA, Meslin F X, Pawlowski Z S. WHO/OIE on *Echinococcosis* in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern. Paris, 2002:20-69.
4. Craig P. *Echinococcus multilocularis*. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:437-44.
5. Vuitton DA, Zhou H, Bresson-Hadni S, Wang Q, Piarroux M, Raoul F, et al. Epidemiology of alveolar echinococcosis with particular reference to China and Europe. *Parasitology* 2003;127:87-107.
6. Torgerson PR, Keller K, Magnotta M, Ragland N. The global burden of alveolar echinococcosis. *Plos Negl Trop Dis* 2010;4:e722.
7. Canda Ş. Canda T. Türkiye ekinokokkozis haritası ve kaynakçası. *T Ekopatol Derg* 1995;1:59-69.
8. Özbilgin A, İnceboz T. Özcel'in Tıbbi Parazit Hastalıkları. In: Özcel MA, Özbek Y, Ak M. Alveolar echinococcosis İzmir: Meta basım, 2007:567-82.
9. Mıman Ö, Yazar S. Literatür ışığında Türkiye'de Alveolar Ekinokokkozis. *T Parazitol Derg* 2012;36:116-20.
10. Parsak CK, Demiryurek HH, Inal M, Sakman G, Koltas IS, Erkocak EU, et al. Alveolar hydatid disease: imaging findings and surgical approach. *Acta Chir Belg* 2007;107:572-7.
11. Carmena D, Benito A, Eraso E. The immunodiagnosis of *Echinococcus multilocularis* infection. *Clin Microbiol Infect* 2007;13:460-75.
12. Kern P. Clinical features and treatment of alveolar echinococcosis. *Curr Opin Infect Dis* 2010;23:505-12.
13. Reuter S, Nüsle K, Kolokythas O, Haug U, Rieber A, Kern P, Kratzer W. Alveolar liver echinococcosis: a comparative study of three imaging techniques. *Infection* 2001;29:119-25.
14. Can H, İnceboz T, Caner A, Şahar EA, Karakavuk M, Döşkaya M, et al. Kist Örneklerinde Yeni Bir Tek Tüp Multipleks Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile *Echinococcus granulosus* ve *Echinococcus multilocularis*'in Saptanması. *Mikrobiyol Bul* 2016;50:266-77
15. Gottstein B. *Echinococcus multilocularis*: antigenic variance between different parasite isolates. *Parasitol Res* 1991;77:359-61.
16. Gottstein B, Jacquer P, Bresson-Hadni S, Eckert J. Improved primary immunodiagnosis of alveolar echinococcosis in humans by an enzyme-linked immunosorbent assay using the em2plus antigen. *J Clin Microbiol* 1993;31:373-6.
17. Knapp J, Sako Y, Grenouillet F, Bresson-Hadni S, Richou C, Gbaguidi-Haore H, et al. Comparison of the serological tests ICT and ELISA for the diagnosis of alveolar echinococcosis in France. *Parasite* 2014;21:34.
18. Bart JM, Piarroux M, Sako Y, Grenouillet Bresson-Hadni S, Piarroux R, et al. Comparison of several commercial serologic kits and Em18 serology for detection of human alveolar echinococcosis. *Diagn Micr Infect Dis* 2007;59:93-5.
19. Liance M, Janin V, Bresson-Hadni S, Vuitton AD, Houm R, Piarroux R. Immunodiagnosis of *Echinococcus* Infections: Confirmatory Testing and Species Differentiation by a New Commercial Western Blot. *J Clin Microbiol* 2000;38:3718-21.
20. Georges S, Villard O, Filisetti D, Mathis A, Marcellin L, Hansmann Y, et al. Usefulness of PCR analysis for diagnosis of alveolar echinococcosis with unusual localizations: two case studies. *J Clin Microbiol* 2004;42:5954-6.
21. Tappe D, Frosch M, Sako Y, Itoh S, Grüner B, Reuter S, et al. Close relationship between clinical regression and specific serology in the follow-up of patients with alveolar echinococcosis in different clinical stages. *Am J Trop Med Hyg* 2009;80:792-7.
22. Tappe D, Grüner B, Kern P, Frosch M. Evaluation of a Commercial *Echinococcus* Western Blot Assay for Serological Follow-Up of Patients with Alveolar Echinococcosis. *Clin Vaccine Immunol* 2008;15: 1633-7.
23. Korkmaz M, Inceboz T, Celebi F, Babaoglu A, Uner A. Use of two sensitive and specific immunoblot markers, em70 and em90, for diagnosis of alveolar echinococcosis. *J Clin Microbiol* 2004;42:3350-2.